



TITLE:

NK cell alloreactivity against KIR-ligand-mismatched HLA-haploidentical tissue derived from HLA haplotype-homozygous iPSCs.(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Ichise, Hiroshi

CITATION:

Ichise, Hiroshi. NK cell alloreactivity against KIR-ligand-mismatched HLA-haploidentical tissue derived from HLA haplotype-homozygous iPSCs. 京都大学, 2017, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2017-11-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20758>

RIGHT:

京都大学	博士 （医科学）	氏 名	一 瀬 大 志
論文題目	NK cell alloreactivity against KIR-ligand-mismatched HLA-haploidentical tissue derived from HLA haplotype-homozygous iPSCs. (HLA ハプロタイプホモ接合型 iPS 細胞に由来する KIR リガンド不適合 HLA 半合致組織に対する NK 細胞のアロ反応性)		
(論文内容の要旨)			
<p>人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) は、胚性幹細胞 (ES 細胞) の制約を解決することができる細胞として注目されてきた。しかしながら、iPS 細胞を患者ごとに作製することは、迅速性、品質管理、コスト等の問題により、事実上困難であると考えられるようになり、iPS ストック事業が考案された。iPS ストック事業はヒト白血球抗原 (HLA) ハプロタイプホモ接合型 (以下、HLA ホモ型) の健常人ドナーより iPS 細胞を樹立し、同ハプロタイプの 1 つを共有する HLA ハプロタイプヘテロ接合型 (以下、HLA ヘテロ型) の患者に移植するための細胞バンクである。この iPS ストック事業は、他家移植を前提としているため、拒絶反応が起こる可能性が想定されるが、これまで iPS ストック事業における他家移植を前提とした実験系で拒絶反応を検証した報告はない。そこで、リンパ球のサブセットであるナチュラルキラー (NK) 細胞のアロ認識機構に着目し、NK 細胞による拒絶反応が起こりうるかどうかを検証した。</p> <p>NK 細胞は MHC クラス I 分子の欠如を認識して活性化することのできる唯一の細胞種であり、この反応をミッシングセルフ応答と呼ぶ。ヒト NK 細胞は、HLA クラス I 分子を認識し、抑制性のシグナルを入力する受容体であるキラー細胞免疫グロブリン様受容体 (KIR) を発現することで、正常な細胞と、ウイルス感染などにより HLA クラス I の発現を低下させた細胞を識別し殺傷する。</p> <p>HLA クラス I 分子のうち、全ての HLA-C アロタイプは C1 と C2 に分類され、それぞれ KIR2DL3、KIR2DL1 に認識される。従って、レシピエントは C1/C1、C1/C2、C2/C2 の 3 タイプに分けられる。HLA ホモ型の iPS 細胞は C1/C1 型か C2/C2 型のいずれかであるため、C1/C2 型のヘテロのレシピエントの NK 細胞は、C2 または C1 の欠如を認識し、再生細胞を殺傷する可能性が考えられた。</p> <p>HLA ホモ型 iPS 由来細胞がヘテロ型の NK 細胞に傷害されるかどうかを検証するために、HLA ホモ型で、HLA-C 遺伝子型が C1/C1 のドナーより iPS 細胞を樹立し、標的細胞として T 細胞と血管内皮細胞を誘導した。仮想レシピエントとして、HLA ハプロタイプの一方を共有するヘテロ型で、HLA-C のアロタイプが C1/C1 型のドナーと、C1/C2 型のドナーを選定した。これら仮想レシピエントの NK 細胞と、HLA ホモ型の iPS 細胞由来 T 細胞または血管内皮細胞とを共培養したところ、C1/C2 型ドナーの NK 細胞のみが HLA ホモ型 iPS 細胞由来細胞を殺傷した。また、C1/C2 型のドナー NK 細胞のうち、C2 の欠如を認識できる KIR2DL1 を発現した NK 細胞分画がこの拒絶反応を担っていることを明らかにした。この KIR2DL1 陽性 NK 細胞分画が真に HLA-C2 分子の欠如を認識して HLA ホモ型 iPS 細胞由来細胞を傷害しているのかどうかを検証するために、同 iPS 細胞に HLA-C2 遺伝子を導入し、T 細胞と血管内皮細胞を誘導したところ、これらの細胞は C1/C2 型の NK 細胞に傷害されなかった。従って、HLA ヘテロ型で HLA-C のアロタイプが C1/C2 の NK 細胞が、C1/C1 型の HLA ホモ型 iPS 細胞由来細胞を殺傷するメカニズムは、HLA-C2 の欠如を認識することによって活性化するミッシングセルフ応答であることが明らかになった。また、レシピエントが保有する HLA-C2 遺伝子を HLA ホモ型の iPS 細胞に発現させることで、NK 細胞による拒絶反応を抑制できることが示された。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>iPS ストック事業では、HLA ハプロタイプホモドナーから iPS 細胞を作製し、再生した組織をハプロタイプヘテロのレシピエントに移植することが計画されている。申請者は、この他家移植に伴い、NK 細胞のアロ認識に基づく拒絶反応が誘起される可能性を想起し、その検証を行った。</p> <p>先ずヒト NK 細胞に発現した NK 受容体 KIR が HLA-C アロタイプ (C1 および C2) を識別することに着目し、C1 のみをもつホモ型のドナー由来 iPS 細胞を樹立し、T 細胞と血管内皮細胞へ分化誘導した。これら 2 種を標的細胞とし、C1 と C2 の両方をもつヘテロの仮想レシピエントより単離した NK 細胞と共培養したところ、標的細胞が傷害されることを見出した。さらに、標的細胞を傷害する NK 細胞群が HLA-C2 を認識して NK 機能を抑制する KIR を発現する集団であったことから、NK 細胞がホモ再生細胞の C2 の欠如を感知して活性化し、標的細胞を傷害する機構が考えられた。実際、仮想レシピエントの HLA-C2 遺伝子を C1 ホモ型の iPS 細胞に遺伝子導入して樹立した 2 種の標的分化細胞は、NK 細胞による傷害を受けず、iPS 細胞段階でのゲノム編集技術によって NK 細胞の反応を回避できる可能性が示された。</p> <p>以上の研究成果は、iPS 細胞を用いた再生細胞移植の拒絶反応の理解に重要な知見であり、移植医学の発展に大きく貢献するものである。</p>			
<p>したがって、本論文は博士 (医科学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 10 月 16 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公表可能日 年 月 日			